

# Çocukluk çağında periferik kök hücre toplanması uygulamaları

## Peripheral stem cell collection and practices at childhood

Elif Güler KAZANCI<sup>1</sup>, Turan BAYHAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Kliniği Öğretim Üyesi, Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

### ÖZ

Kök hücre nakli gerek, malign gerekse benign birçok hastalıkta küratif bir tedavi seçeneğidir. Günümüzde otolog kök hücre nakillerin %99'u, allojenik kök hücre nakillerin ise %70'inden fazlasında kök hücre kaynağı olarak periferik kök hücre kullanılmaktadır. Periferik kan kök hücre miktarı kemik iliğine göre daha azdır. Bu nedenle kemik iliğinden periferik kana kök hücre geçişi sağlamak gerekir. Bu işlem mobilizasyon işlemi ve kullanılan ilaç mobilizasyon ajanı olarak adlandırılır. İlikten periferik kana hematopoietik kök hücrelerin mobilizasyonu için sıklıkla G-CSF ya tek başına ya da kemoterapi ile birlikte kullanılır. Allojenik periferik kök hücre mobilizasyonunda ise G-CSF kullanılmaktadır. Mobilizasyon başarısızlığında ise plerixafor G-CSF kombinasyonu önemli bir tedavi seçeneğidir. Otolog ve allojenik olgularda optimal toplama zamanı periferik kandaki CD34+ hücre sayısı değerlendirilerek kararlaştırılır. Bunun için eşik değer >10-20/µL CD34+ hücre sayısıdır. Toplanan ürünün yeterliliği ise üründeki CD34+ hücre sayısı ile değerlendirilir.

Deneyimli bir aferez ekibi için uygulanacak yöntemler, bu yöntemlere bağlı görülebilecek yan etkilerin iyi bilinmesi ve bu konuda hasta ve vericilerin bilgilendirilmesi yapılacak işlemin kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Aferez, kemik iliği, kök hücre, Granülosit koloni stimule edici faktör G-CSF

### ABSTRACT

Stem cell transplant is a curative treatment option for many malignant, and benign diseases. Today, peripheral stem cell is used as a source of stem cells for 99% of autologous stem cell transplants, and more than 70% of allogenic stem cell transplants as well. Hence the amount of peripheral blood stem cells is less than it is found in bone marrow. Therefore it is a necessity to ensure passage of stem cells from bone marrow into peripheral blood. This procedure is called as mobilisation and the drug used for this procedure is also called as a mobilisation agent.

In general, G-CSF is used either alone or with chemotherapy for the mobilisation of hematopoietic stem cells from bone marrow into peripheral blood. However G-CSF is used for the mobilisation of allogenic peripheral stem cell. The combination of G-CSF and plerixafor is a significant treatment option in the event of mobilisation failure. Optimal collection time for autologous and allogenic cases is determined based upon the assessment of CD34+ cell counts in peripheral blood. For this procedure the threshold of CD34+ cell counts is >10-20/µL The sufficiency of collected product is assessed by the number of CD34+ cells in the product.

It is of great importance for an experienced apheresis team to be very knowledgeable with the methods applied and their side effects and informing patients and donors with regard to the quality of performed procedure.

**Keywords:** Apheresis, bone marrow, stem cell, Granulocyte colony stimulating factor G-CSF

**Alındığı tarih:** 31.07.2018

**Kabul tarihi:**

**Yazışma adresi:** Uzm. Dr. Elif Güler Kazancı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Kliniği, Yıldırım - Bursa - Türkiye

**e-mail:** elif.kazanci@saglik.gov.tr

## GİRİŞ

Periferik kandaki öncül hücreler veya hematopoetik kök hücreler (HPKH) kendini yenileme yeteneğine sahip olan, kemik iliğinde üretilen ve vücudun normal durumunda periferik kanda oldukça az bulunan hücrelerdir. Kemoterapi sonrası kemik iliğinin yenilenmesi sırasında veya vücut dışı kaynaklı hematopoetik sitokinlerle (Granülosit koloni stimule edici faktör; G-CSF) gibi periferik kanda sayıları artar. Günümüzde HPKH nakli çocukluk çağında bazı malign tümörlerin, hemoglobinopatilerin, kemik iliği yetmezliği sendromlarının, immün yetmezliklerin ve doğuştan metabolik hastalıkların standart tedavisi durumuna gelmiştir <sup>(1)</sup>.

Kök hücre nakli hastanın kendi HPKH'sinden yapılıyorsa olog nakil, başka bir bireyden alınan HPKH ile yapılıyorsa allojenik nakil olarak isimlendirilir. Olog nakil genellikle lenfoma ve solid tümörlerde yüksek doz kemoterapi verilmesi sonrası hastanın uzun süre kemik iliği aplazisinde kalması için kullanılır. HPKH direkt kemik iliğinden aspirasyon ile veya periferik kandan aferez yöntemi ile toplanabilir. Ayrıca kord kanı da bir diğer HPKH kaynağıdır.

### Klinikte kullanılan başlıca hematopoetik kök hücre kaynakları nelerdir?

- Kemik iliği, periferik kan ve kordon kanı.

Olog nakillerin neredeyse %99'u periferik kandan elde edilen HPKH ile yapılırken, allojenik akilelerde bu oran %71'dir <sup>(2)</sup>. Avrupa Kan ve İlik Nakli Derneği (EBMT) verilerine göre çocuklara yapılan HPKH nakillerinin %64'ü kemik iliğinden, %30'u periferik kandan ve %6'sı kord kanından yapılmıştır <sup>(1,3)</sup>. Çocukluk döneminde de artık periferik HPKH daha çok kullanılmaktadır.

### Günümüzde en sık kullanılan kök hücre kaynağı nedir?

- EBMT verilerine göre günümüzde erişkinlerde allojenik nakillerin %71'ini, olog nakillerin %99'unu periferik kök hücre oluşturmaktadır.

Periferik HPKH'nin kemik iliğinden elde edilen HPKH'ye göre bazı üstünlükleri; genel anestezi gerektirmiyor olması, toplanmasının hasta açısından kolay olması, engraftman süresinin daha kısa olması, bir seansta daha fazla hücre toplanabiliyor olması ve ürüne kemik iliğini tutabilecek tümörün bulaşma olasılığının daha düşük olmasıdır (Tabo 1) <sup>(2)</sup>. Ancak çocukluk döneminde aferezin kendine has zorlukları bulunmaktadır. Yazımızda, çocukluk döneminde periferik HPKH toplanmasının genel ilkelerini ve sık karşılaşılan sorunları tartışmak istedik.

**Tablo 1. Periferik kök hücre aferezi avantajları.**

- 1) Genel anestezi gerektirmemesi, ayaktan yapılabilmesi ve daha az travmatik olması gibi uygulama kolaylıkları
- 2) Aferez öncesi transfüzyon gereksiniminin daha az olması
- 3) Nakil sonrası engraftmanın daha hızlı gerçekleşmesi
- 4) Trombosit süspansiyonu gereksiniminin daha az olması
- 5) Hastanede kalış süresinin daha kısa olmasıdır.

### Kök hücre ürün yeterliliği

Optimal bir mobilizasyon rejimi hematopoetik yeniden yapılanmanın desteklenmesi ve nakil sonrası iyileşmenin hızlı ve süregen olması için en az sayıda aferez işlemi ile yeterli miktarda kök hücre toplanmasına olanak sağlamalıdır. Kök hücrelerin kullanımının ilk yıllarında, hangi hücrenin engraftman sağlanması yönünde bir ölçü olacağı uzun zaman tartışma konusu olmuştur. İlk yıllarda bazı merkezler mononükleer hücre sayılarını (MNH) esas almışlar ise de zamanla yapılan çalışmalar CD34+ hücreler üzerine yoğunlaşmıştır. Bu amaçla en sık kullanılan yöntem CD34+ hücre sayılarının akım sitometrik yöntemle saptanmasıdır.

**Klinik pratikte hematopoetik kök hücre belirteci olarak ne kullanılmaktadır?**

- Akım sitometri analizinde CD34 antijeninin pozitif olması HPKH'nin tanınmasını sağlar.

**Kök Hücrenin Mobilizasyonu**

Kök hücre, kemik iliği matrisi ve osteoklast arası reseptör-ligand etkileşimi HKH'nin kemik iliğinde tutunması için çok önemlidir. Bu önemli reseptör-ligand etkileşimlerine CXCR4/SDF-1, VLA-4/VCAM-1, CD44/HA, CD62/PSLG ve c-kit/KL örnek verilebilir. Birçok prelinik çalışma modeli bu reseptör-ligand etkileşiminin inhibisyonunun kök hücre mobilizasyonu ile sonuçlandığını göstermiştir. Bunların içinde CXC kemokin ailesinin üyeleri olan SDF-1 ve GRO- $\beta$  en önemlileridir. Bunların tek başına veya kombine inhibisyonu mobilizasyon mekanizmalarını güçlendirmektedir <sup>(1,4)</sup>.

**Periferik kök hücre mobilizasyonunda sık kullanılan ajanlar nelerdir?**

- G-CSF
- Kemoterapi + G-CSF
- G-CSF + Plerixafor

Otolog ve allojenik nakil için HPKH mobilizasyonu farklı yöntemlerle yapılmaktadır. Otolog nakillerde hastanın altta yatan kanser hastalığına uygun kemoterapi rejimi verildikten sonra G-CSF tedavisine başlanır (10  $\mu$ g/kg/gün) ve beyaz küre sayısının dip seviyeye düşmesi beklenir, bu süre kullanılan kemoterapiye bağlı olup, genellikle 7-8 gündür <sup>(4,5)</sup>. Sonrasında beyaz küre sayısı günlük takip edilir, genellikle beyaz küre sayısı 1000/ $\mu$ L ve CD34 pozitif hücre sayısı >10/ $\mu$ L ise HPKH toplanabilir <sup>(1,4)</sup>. CD34 pozitif hücre sayısı için genel kabul görür bir eşik

değer yoktur. Bazı merkezler 20/ $\mu$ L'ye kadar yükselmesini önerir ama periferik kanda HPKH'nin yüksekliği birkaç gün gibi kısa bir süre olduğu için bu dönem kaçırılmamalıdır <sup>(1,5,6)</sup>.

**Periferik kök hücre mobilizasyonu nedir?**

- Periferik kandaki kök hücre içeriğini artırmak için kullanılan yöntemdir.

G-CSF dozu ile ilgili farklı gruplar farklı dozlar önerebilmektedir. Örneğin, Brezilya'dan yapılan bir çalışmada, G-CSF dozunun 15  $\mu$ g/kg/gün iki dozda verilmesinin aferez sayısını azalttığı belirtilmiştir <sup>(6)</sup>. Otolog nakiller için toplanması hedeflenen kök hücre sayısı 2-5 x10<sup>6</sup> CD34 pozitif hücre/kg vücut ağırlığıdır. Hastanın aldığı radyoterapi dozu ve kemoterapi sayısına göre standart yöntemlerle istenilen sayıda HPKH toplanması başarılamayabilir. Erişkin çalışmalarında etkinliği gösterilmiş plerixafor, HPKH'lerin yüzeyinde bulunup kemik iliği stromasına tutunmalarını sağlayan CXCR4 reseptörüne bağlanarak HPKH mobilizasyonunu sağlar <sup>(7)</sup>. Çocuk serilerinde de G-CSF ile yeterli mobilizasyon sağlanamayan hastalarda etkinliği ve güvenliği gösterilmiştir <sup>(5)</sup>. Plerixafor, G-CSF ile kombine olarak, subkutan olarak 0.24 mg/kg dozunda uygulanmakta, etkin mobilizasyonun 6-12 saat sonra olmaktadır. Yeterli ürün elde edilemezse bir gün sonra ikinci doz da denenebilmektedir <sup>(4)</sup>.

**G-CSF optimum doz nedir?**

- 10  $\mu$ g/kg/gün, IV/SQ, tek veya iki bölünmüş dozda

Allojenik kök hücre nakli için mobilizasyon yapılacak çocuklar alıcının genellikle kardeşleri veya çocuğu ya da yakın akrabalarıdır <sup>(8)</sup>. Mobilizasyon için kullanılan G-CSF şeması dört gün 10  $\mu$ g/kg tek

veya iki dozda verilmesi ve beşinci gün HPKH toplanmasıdır <sup>(1,4)</sup>.

**G-CSF mobilizasyonunda maksimum CD34+ düzeyine hangi gün ulaşılır?**

- 5. gün

**Kök hücre mobilizasyonunda G-CSF uygulama yolu nedir?**

- Ciltaltı ve intravenöz uygulamalar etkin ve güvenlidir.

**Plerixafor nasıl kök hücre mobilizasyonu sağlamaktadır?**

- Plerixafor SDF-1alfa ile CXCR4'ün bağlanmasını inhibe ederek, hematopoietik kök mobilize olmasını sağlamaktadır.

**Plerixaforun en uygun kullanımı nasıldır?**

- Plerixafor'un G-CSF ile kombine kullanımı önerilmektedir.

### Kök Hücrenin Toplanması

Hematopoietik kök hücre toplanması işlemi başlamadan önce hasta aferez ekibi tarafından değerlendirilmeli, kan sayımı, serum elektrolitleri ve kalp fonksiyonlarının normal olduğundan emin olunmalıdır. Vericinin hemoglobin düzeyinin 12 g/dL'nin, trombosit sayısının 40.000/ $\mu$ L'nin üzerinde olması önerilmektedir <sup>(9)</sup>. İşlem öncesi anne babadan yazılı onam kesinlikle alınmalıdır.

Çocuk döneminde periferik HPKH toplanmasında damar yolunun sağlanması önemli bir sorundur. Hastalar işlemden önce katater gereksinimi açısından değerlendirilmelidir. Küçük çocukların periferik damarları aferez için gerekli akımı sağlayacak iğneler için küçük olduğundan çoğunlukla çift lümenli,

sert santral venöz katetere gereksinim duyulur <sup>(9,10)</sup>. Büyük çocuklarda katater, subklavian veya internal juguler vene yerleştirilebilirken küçük çocuklarda komplikasyonları önlemek için femoral venler de yeğlenebilir. Literatürde önerilen kateter boyutu 7-12 French arasındadır <sup>(4)</sup>.

**Periferik kök hücre aferezi için hangi kateter yeğlenmelidir?**

- Çocuklar için 7-12 F çift lümenli santral venöz kateter

Kök hücrenin toplanması işlemi aferez ünitesinde veya yoğun bakım ünitesinde gerçekleştirilebilir. Aferez için kullanılan makineler erişkinler ile aynıdır, çocukluk döneminde yapılan aferez için farklı markalar karşılaştırıldığında yan etkiler ve etkinlik açısından fark olmadığı görülmüştür <sup>(11)</sup>.

Çocukluk dönemi periferik HPKH toplanmasında önemli bir sorun da vücut dışına alınan kan hacmidir. Küçük çocuklarda aferezin başlamasıyla vücut dışına alınacak kan hipovolemik şoka neden olabileceğinden 20 kg'ın altındaki çocuklarda eritrosit süspansiyonu ve/veya albumin ile priming yapılmalıdır <sup>(1,12)</sup>.

### Kök Hücre Mobilizasyonu ve Toplanması Sırasında Gelişebilen Komplikasyonlar

Mobilizasyon sırasında kullanılan G-CSF tedavisine ikincil hafif yan etkiler gelişebilmektedir. İran'dan yapılan bir çalışmada, hastaların %5'inde yorgunluk, %3'ünde baş ağrısı bildirilmiş, hastaların yakınmaları bir hafta içerisinde düzelmiştir <sup>(13)</sup>. Erişkinlerin aksine çocukluk döneminde kemik ağrısı sık görülmemektedir <sup>(1,13,14)</sup>. G-CSF'in çok ender olgu bildirimleri şeklinde olan ama ciddi yan etkileri dalak ruptürü, akciğer hasarı, rabdomyoliz ve otoimmünitedir <sup>(15-18)</sup>. G-CSF tedavisinin uzun dönemde kanserle ilişkisi gösterilmemiştir <sup>(13)</sup>.

Aferez sırasında en sık kullanılan antikoagülan

sitrattır. Çocukluk çağında sitratın karaciğerde metabolize edilmesi daha yavaştır bu nedenle sitratın kalsiyum bağlamasına ikincil yan etkiler daha sık görülebilir<sup>(9)</sup>. Özellikle küçük çocuklarda hipokalsemi karın ağrısı ve disfori gibi oldukça müphem bulgularla kendini gösterir. Hipokalseminin derinleşmesiyle kardiyak ritm bozukluğu gibi yaşamı tehdit eden semptomlar gelişebilir. Bu nedenle hastalara devamlı elektrokardiyograf takibi ve 15 dk. bir tansiyon ölçümü yapılmalı, kalsiyum infüzyonu uygulanmalıdır<sup>(4)</sup>. Trombositopeni, HPKH toplanması sonrası vericilerde görülebilir. Karasu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, 100 sağlıklı periferik HPKH vericisi incelenmiş, tüm aferezlerin %13'ünde trombositopeni gelişmiş, yüksek hacimde aferez yapılanlarda (vericinin kan hacminin üç katından fazla) daha fazla trombositopeni görülmüştür<sup>(8)</sup>.

Kök hücre, kemik iliği matriks ve osteoklast arası reseptör-ligand etkileşimi kök hücrenin kemik iliğine tutunması çok önemlidir. Bu bağlamda CXCR4/SDF-1, VLA-4/VCAM-1, CD44/HA, CD62/PSLG ve c-kit/KL çok önemlidir. Bunların gelecekte mobilizasyon ajanları için önemli hedefler olması beklenmektedir. Gelecek yıllarda kemoterapi kullanmadan yeterli kök hücre toplamak veya daha az kök hücre ile nakil yapmanın olası olması beklenmektedir<sup>(19)</sup>.

## SONUÇ

Periferik HPKH nakli, kullanım alanı geniş bir tedavi seçeneğidir. Çocukluk çağında vericilerin HPKH toplanmasına hazırlanması ve vericilerden HPKH toplanmasında aferez konusunda deneyimli bir ekibin hazır bulunması tedavi başarısının yükseltilmesi için çok önemlidir.

## KAYNAKLAR

1. Karakukcu M, Unal E. Stem cell mobilization and collection from pediatric patients and healthy children. *Transfus Apher Sci.* 2015;53(1):17-22. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2015.05.010>
2. Salazar-Riojas R, Garcia-Lozano JA, Valdes-Galvan M, Martinez-Gonzalez O, Cantu-Rodriguez OG, Gonzalez-

- Llano O, et al. Effective collection of peripheral blood stem cells in children weighing 20 kilogram or less in a single large-volume apheresis procedure. *J Clin Apher.* 2015;30(5):281-7. <https://doi.org/10.1002/jca.21375>
3. Miano M, Labopin M, Hartmann O, Angelucci E, Cornish J, Gluckman E, et al. Haematopoietic stem cell transplantation trends in children over the last three decades: a survey by the paediatric diseases working party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39(2):89-99. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1705550>
4. Del Fante C, Seghatchian J, Perotti C. Reflections on methodical approaches to hematopoietic stem cell collection in children. *Transfus Apher Sci.* 2018;57(3):425-7. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.05.005>
5. Maschan AA, Balashov DN, Kurnikova EE, Trakhtman PE, Boyakova EV, Skorobogatova EV, et al. Efficacy of plerixafor in children with malignant tumors failing to mobilize a sufficient number of hematopoietic progenitors with G-CSF. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50(8):1089-91. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.71>
6. Eid KA, Miranda EC, Aguiar Sdos S. Mobilization and collection of CD34(+) cells for autologous transplantation of peripheral blood hematopoietic progenitor cells in children: analysis of two different granulocyte-colony stimulating factor doses. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015;37(3):160-6. <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.02.006>
7. Devine SM, Flomenberg N, Vesole DH, Liesveld J, Weisdorf D, Badel K, et al. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2004;22(6):1095-102. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.07.131>
8. Karasu G, Uygun V, Yesilipek A. Factors associated with peripheral blood stem cell yield in healthy pediatric donors. *Transfus Apher Sci.* 2017;56(6):819-24. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2017.11.013>
9. Moog R. Peripheral blood stem cell collection in children: Management, techniques and safety. *Transfus Apher Sci.* 2010;43(2):203-5. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2010.07.020>
10. Marson P, Petris MG, De Silvestro G. Collection of peripheral blood stem cells in pediatric patients: a concise review on technical aspects. *Bone Marrow Transplant.* 1998;22(Suppl 5):S7-11.
11. Cherqaoui B, Rouel N, Auvrignon A, Defachelles AS, Demeocq F, Kanold J, et al. Peripheral blood stem cell collection in low-weight children: retrospective comparison of two apheresis devices. *Transfusion.* 2014;54(5):1371-8. <https://doi.org/10.1111/trf.12448>
12. Pulsipher MA, Levine JE, Hayashi RJ, Chan KW, Anderson P, Duerst R, et al. Safety and efficacy of allogeneic PBSC collection in normal pediatric donors: the pediatric blood and marrow transplant consortium experience (PBMTTC) 1996-2003. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35(4):361-7. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704743>
13. Behfar M, Faghihi-Kashani S, Hosseini AS, Ghavamzadeh

- A, Hamidieh AA. Long-Term Safety of Short-Term Administration of Filgrastim (rhG-CSF) and Leukapheresis Procedure in Healthy Children: Application of Peripheral Blood Stem Cell Collection in Pediatric Donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018;24(4):866-70.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.12.786>
14. Martino M, Console G, Dattola A, Callea I, Messina G, Moscato T, et al. Short and long-term safety of lenograstim administration in healthy peripheral haematopoietic progenitor cell donors: a single centre experience. *Bone Marrow Transplant.* 2009;44(3):163-8.  
<https://doi.org/10.1038/bmt.2008.440>
15. Akyol G, Pala C, Yildirim A, Keklika M, Demir K, Dortudak S, et al. A rare but severe complication of filgrastim in a healthy donor: splenic rupture. *Transfus Apher Sci.* 2014;50(1):53-5.  
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2013.07.036>
16. Arimura K, Inoue H, Kukita T, Matsushita K, Akimoto M, Kawamata N, et al. Acute lung injury in a healthy donor during mobilization of peripheral blood stem cells using granulocyte-colony stimulating factor alone. *Haematologica.* 2005;90(3):ECR10.
17. Kroschinsky F, Hundertmark J, Mauersberger S, Hermes M, Poppe-Thiede K, Rutt C, et al. Severe autoimmune hyperthyroidism after donation of growth factor-primed allogeneic peripheral blood progenitor cells. *Haematologica.* 2004;89(4):ECR05.
18. Hacıoğlu S, Altuntas F, Kaynar L, Sari I, Patiroğlu T, Cetin M. Rhabdomyolysis in a Healthy Peripheral Blood Stem Cell Donor following Mobilization with Filgrastim. *Transfus Med Hemother.* 2009;36(2):135-7.  
<https://doi.org/10.1159/000206822>
19. Altuntaş F, Korkmaz S. Hematopoietic progenitor cell mobilization. *Transfus Apher Sci.* 2017 Dec;56(6):787.  
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2017.11.024>